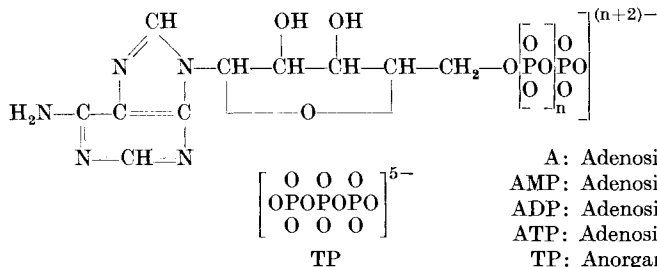


## 76. Adenosinphosphate und Triphosphat als Komplexbildner für Calcium und Magnesium

von Arthur E. Martell<sup>1)</sup> und G. Schwarzenbach.

(10. II. 56.)

Im Verlauf der letzten Jahre sind eine Reihe von Tatsachen bekannt geworden, welche zeigen, dass bei den Wirkungen von Adenosintriphosphat (ATP) dessen Fähigkeit zur Bindung von Metallionen von ausschlaggebender Bedeutung ist. Als Beispiel sei die Wirkung von ATP auf Calcifikationsvorgänge<sup>2)</sup> erwähnt. Eventuell ist auch die Giftigkeit von Beryllium auf eine Hemmung der Phosphatase-tätigkeit<sup>3)</sup> zurückzuführen, die deshalb eintritt, weil das Ion  $\text{Be}^{2+}$  das Magnesium aus seiner Bindung mit ATP verdrängt<sup>4)</sup>. Schliesslich ist von *Raaflaub*<sup>5)</sup> gezeigt worden, dass man ATP bei gewissen enzymatischen Reaktionen mit Erfolg durch Komplexbildner ganz anderen Baues ersetzen kann. Auf Anregung von Herrn Dr. *Raaflaub* haben wir es unternommen, die Stabilität der Calcium- und Magnesiumkomplexe folgender Verbindungen zu untersuchen:



A: Adenosin (ohne Phosphatrest)  
 AMP: Adenosinmonophosphat ( $n = 0$ )  
 ADP: Adenosindiphosphat ( $n = 1$ )  
 ATP: Adenosintriphosphat ( $n = 2$ )  
 TP: Anorganisches Triphosphat

Als allgemeines Zeichen für die von den aciden Protonen freien Komplexbildner, deren Formeln oben stehen, also die Adenosinmolekel und die Anionen mit den Ladungen 2 – (bei AMP); 3 – (bei ADP), 4 – (bei ATP) und 5 – (bei TP), verwenden wir das Kurzzeichen Z.

1. Die Protonkomplexe entstehen natürlich dadurch, dass man zum Komplexbildner Z Säure hinzufügt. Deren Stabilitätszahlen (pK-Werte) erhielten wir aus Neutralisationskurven von Lösungen,

<sup>1)</sup> John Simon Guggenheim Fellow, Universität Zürich 1954/55. On leave, Department of Chemistry, Clark University, Worcester, USA.

<sup>2)</sup> *P. Cartier*, C. r. Soc. biol. **144**, 331 (1950); *A. B. Gutman & T. F. Yu*, Metabolic Interrelations, Josiah Macy Jr. Foundations, New York, 1st Conference 1949; *V. Di Stefano & W. F. Neuman*, J. biol. Chemistry **200**, 759 (1953).

<sup>3)</sup> *K. W. Cochran, M. M. Ferivic & K. P. Du Bois*, J. Pharmacol. expt. Therap. **102**, 165 (1950).

<sup>4)</sup> *M. Calvin*, Symposium on the Mechanisms of Enzyme Action, W. D. McElroy & B. Glass, Editors, Johns Hopkins University Press, Baltimore 1954.

<sup>5)</sup> *J. Raaflaub*, Helv. physiol. pharmacol. Acta **12**, 688 (1954); Helv. **38**, 27 (1955).

die mit HCl angesäuert worden waren. Der Komplexbildner wurde dabei in einer Konzentration von  $c = 10^{-3}$  vorgelegt, und als Lösungsmittel diente 0,1-n. KCl. In den Fig. 1—4 sind diese einfachen Neutralisationskurven (jeweils die oberste, ausgezogene Kurve) wiedergegeben. Als Abszisse wurde  $a = \text{Mole NaOH pro Komplexbildner}$  und als Abszisse  $\text{pH}$  (log. der Wasserstoffionenkonzentration  $[\text{H}^+]$ ) aufgetragen. Mit  $j$  bezeichnen wir die Protonierungsgrade der Partikeln  $\text{H}_j\text{Z}$ , die sich natürlich leicht aus  $a$  und der vorgelegten Salzsäure ergeben. Die Tab. 1 unterrichtet über die aus diesen Kurven berechneten Basizitätskonstanten von der Bedeutung:

$$K_{\text{H}_j\text{Z}} \equiv [\text{H}_j\text{Z}]/[\text{H}^+][\text{H}_{j-1}\text{Z}]$$

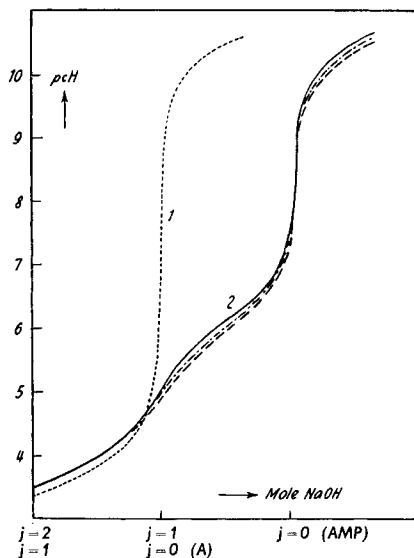


Fig. 1.

Einfache Neutralisationskurven von Adenosin (1) und Adenosinmonophosphat (2), darunter Überschusskurven von AMP mit Calcium und Magnesium.

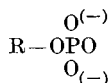
Tabelle 1.

pK-Werte gültig für 0,1-n. KCl bei 20°		
Komplexbildner	$\text{>C-NH}_3^+$	$\begin{matrix} \text{O}^{(-)} \\   \\ \text{-OPOH} \\   \\ \text{O} \end{matrix}$
A	$\lg K_{\text{HZ}} = 3,55 \pm 0,02$	
AMP	$\lg K_{\text{H}_2\text{Z}} = 3,81 \pm 0,01$	$\lg K_{\text{HZ}} = 6,14 \pm 0,02$
ADP	$\lg K_{\text{H}_2\text{Z}} = 3,99 \pm 0,03$	$\lg K_{\text{HZ}} = 6,35 \pm 0,03$
ATP	$\lg K_{\text{H}_2\text{Z}} = 4,05 \pm 0,01$	$\lg K_{\text{HZ}} = 6,50 \pm 0,01$
TP		$\lg K_{\text{HZ}} = 7,87 \pm 0,01$
		$\lg K_{\text{H}_2\text{Z}} = 5,43 \pm 0,01$
$\text{PO}_4^{3-}$	$\lg K_{\text{H}_3\text{PO}_4} = 1,6 \pm 0,2$	$\lg K_{\text{H}_2\text{PO}_4} = 6,77 \pm 0,01$
$\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$	$\lg K_{\text{H}_3\text{P}_2\text{O}_7} = 2,5 \pm 0,1$	$\lg K_{\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7} = 6,08 \pm 0,02$
		$\lg K_{\text{HP}_2\text{O}_7} = 8,45 \pm 0,01$

An den untersuchten Komplexbildnern lassen sich drei verschiedenartige basische Stellen unterscheiden:

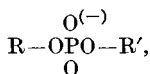
1. Die Aminogruppe des Adeninrestes  $\gg\text{C}-\text{NH}_2$ , welche bei etwa  $\text{pH} = 4$  ein Proton aufnimmt, um in die Ammoniumgruppe überzugehen (s. zweite Kolonne der Tab. 1).

2. Endständige, doppelt negative Phosphatgruppen



die mit dem Anion  $\text{HPO}_4^{2-}$  sekundärer Alkaliphosphate verglichen werden können. Solche sekundäre Phosphatgruppen lagern im Neutralgebiet  $\text{pH} = 5-9$  ein Proton an (s. dritte Kolonne der Tab. 1). Im TP sind zwei solcher Gruppen vorhanden.

3. Mittelständige, einfach negative Phosphatgruppen



wobei R bzw. R' das C-Atom eines Adenosinrestes, das P einer weiteren Phosphatgruppe oder auch H sein kann. Diese Gruppen gleichen dem Anion  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  primärer Alkaliphosphate und lagern ein Proton erst unterhalb  $\text{pH} = 3$  an.

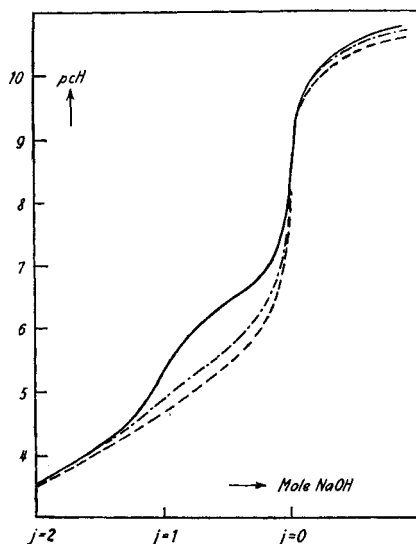


Fig. 2.

Adenosindiphosphat: einfache Neutralisationskurve (oben), Überschusskurve mit Calcium (Mitte), Überschusskurve mit Magnesium (unten).

Da wir die  $\text{pH}$ -Gebiete unterhalb 3 gar nicht ausgewertet haben, braucht die Anlagerung von Protonen an die mittelständigen Phosphat-

gruppen nicht berücksichtigt zu werden. Die drei Adenosinphosphate lagern also im interessierenden pH-Gebiet lediglich zwei Protonen an,

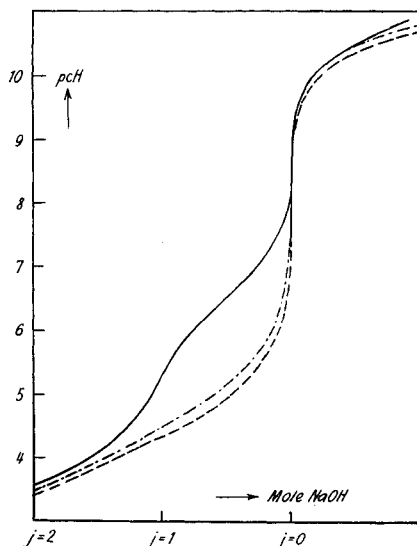


Fig. 3.

Adenosintriphosphat: einfache Neutralisationskurve (oben), Überschusskurve mit Calcium (Mitte), Überschusskurve mit Magnesium (unten).

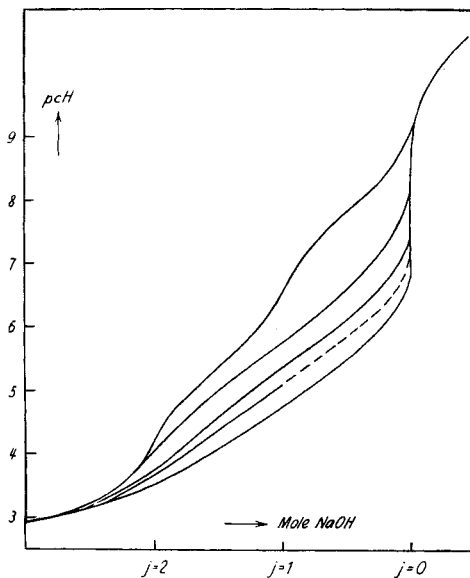
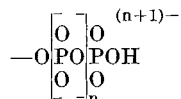


Fig. 4.

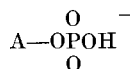
Triphosphat (von oben nach unten): einfache Neutralisationskurve, Äquivalentkurve mit Calcium, Äquivalentkurve mit Magnesium, Überschusskurve mit Calcium, Überschusskurve mit Magnesium.

das erste an die endständige Phosphatgruppe und das zweite an die Aminogruppe. Betrachten wir zuerst die Basizität dieser Aminogruppe, so können wir ein stetiges Ansteigen des pK-Wertes beim Anhängen von ein bis drei Phosphatresten feststellen. Offenbar handelt es sich hier um den von der negativen Ladung der Phosphatreste

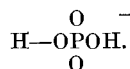


ausgeübten Feldeffekt, da ja diese Ladung von 1- auf 3- ansteigt, wenn wir von AMP zu ATP übergehen<sup>6</sup>).

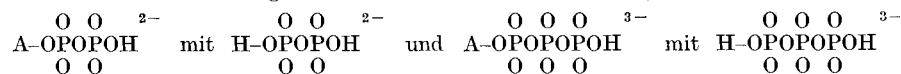
Die Zahlen der dritten Kolonne der Tab. 1 zeigen, dass der Adenosinrest in



auf das Proton einer endständigen Phosphatgruppe stärker acidifizierend wirkt als der Wasserstoff in

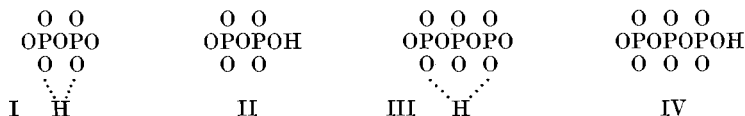


Zu einem andern Ergebnis kommen wir scheinbar, wenn wir



vergleichen.

In einer früheren Arbeit<sup>7</sup>) wurde aber darauf hingewiesen, dass sich die Pyrophosphorsäure in bezug auf ihre Acidität anormal verhält, weil hier Wasserstoffbrücken gebildet werden. Das Hydrogenpyrophosphation  $\text{HP}_2\text{O}_7^{3-}$  hat sehr wahrscheinlich die Struktur I, so dass sein pK-Wert grösser ist, als der Struktur II entsprechen würde. Dieselbe Wasserstoffbrücke lässt dann andererseits den pK-Wert vom Dihydrogenpyrophosphation  $\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7^{2-}$  kleiner werden als erwartet.



Wahrscheinlich ist eine analoge Wasserstoffbrücke auch beim Triphosphat vorhanden (Formel III), was den hohen pK-Wert von  $\text{HP}_3\text{O}_{10}^{4-}$  und den verhältnismässig kleinen Wert für  $\text{H}_2\text{P}_3\text{O}_{10}^{3-}$  erklärt.

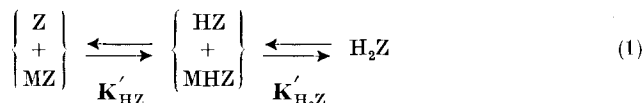
2. Die Erdalkalikomplexe. Die Assoziat der Komplexbildner mit Metallkationen wurden zunächst mit Überschusskurven unter-

<sup>6</sup>) N. C. Melchior, J. biol. Chemistry **208**, 615 (1954), glaubt, dass sich eine Wasserstoffbrücke zwischen dem Aminstickstoff und den Phosphatsauerstoffen ausbildet.

<sup>7</sup>) G. Schwarzenbach & J. Zurc, Mh. Chem. **81**, 202 (1950).

sucht, d. h. Neutralisationskurven, die in Gegenwart eines etwa 10fachen Überschusses an Erdalkalimetall aufgenommen und in den Fig. 1—4 ebenfalls eingezeichnet worden sind. Bei Adenosin ergibt sich dabei gegenüber der einfachen Neutralisationskurve keine Veränderung, was beweist, dass diese Base keine Erdalkaliionen zu binden vermag. Die Überschusskurven von AMP, ADP und ATP zeigen in dieser Reihenfolge zunehmende Komplexbildung an. Besonders stark ist die Wirkung der Erdalkalien auf die Neutralisationskurve des TP. Die Überschusskurve mit Calcium kann hier aber nicht mehr vollständig erhalten werden, weil bei etwa  $a = 2$  ein Niederschlag zu fallen beginnt.

Bei der Neutralisation in Gegenwart des Erdkaliions können wir den vor sich gehenden Prozess folgendermassen formulieren:



Partikeln mit mehr als einem Metallatom pro Komplexbildner, wie  $M_2Z$ ,  $M_2HZ$  und Dihydrogenkomplexe der Zusammensetzung  $MH_2Z$ , sind in (1) nicht berücksichtigt worden. Von diesen ist einzig das Teilchen  $M_2Z$  nicht vollkommen unwahrscheinlich. Wie weiter unten gezeigt werden soll, kommt aber selbst beim anorganischen Triphosphat bei den gewählten Versuchsbedingungen kein bimetallischer Komplex vor, obschon das Anion von TP mit zwei stark basischen endständigen Phosphatgruppen ausgerüstet ist. Das ist ein guter Grund zur Annahme, dass bei den Adenosinphosphaten auf das Teilchen  $M_2Z$  auch keine Rücksicht genommen werden muss. Da das Erdalkalimetall im Überschuss vorliegt, sind die Partikeln ein und desselben Protonierungsgrades jeweils in konstantem Konzentrationsverhältnis vorhanden, und deshalb können wir die Überschusskurve wie eine gewöhnliche Neutralisationskurve behandeln und daraus neue, scheinbare  $pK$ -Werte gewinnen. Da sich die Puffergebiete stärker überlappen als bei den ohne Erdkali aufgenommenen Kurven, ist es zweckmässig, zur Gewinnung dieser  $pK$ -Werte unser graphisches Verfahren anzuwenden<sup>8)</sup>. Das ist insbesondere beim Triphosphat TP geschehen. Die Tab. 2 enthält die Resultate:

**Tabelle 2.**

Scheinbare  $pK$ -Werte bei Gegenwart von Erdkaliüberschuss  $\mu = 0,1, 20^0$ ,  
Konzentration des Komplexbildners  $c = 10^{-3}$ .

Komplexbildner	Erdkali	$\log K'_{HZ}$	$\log K'_{H_2Z}$
AMP	Ca ( $c = 9,14 \cdot 10^{-3}$ )	$6,05 \pm 0,01$	$3,81 \pm 0,01$
AMP	Mg ( $c = 9,33 \cdot 10^{-3}$ )	$5,98 \pm 0,01$	$3,81 \pm 0,01$
ADP	Ca ( $c = 9,14 \cdot 10^{-3}$ )	$5,58 \pm 0,01$	$3,93 \pm 0,02$
ADP	Mg ( $c = 9,33 \cdot 10^{-3}$ )	$5,31 \pm 0,01$	$3,87 \pm 0,03$
ATP	Ca ( $c = 9,14 \cdot 10^{-3}$ )	$5,13 \pm 0,01$	$3,84 \pm 0,02$
ATP	Mg ( $c = 9,33 \cdot 10^{-3}$ )	$4,84 \pm 0,01$	$3,75 \pm 0,03$
TP	Ca ( $c = 9,14 \cdot 10^{-3}$ )	$5,92 \pm 0,05$	$4,42 \pm 0,2$
TP	Mg ( $c = 9,33 \cdot 10^{-3}$ )	$5,48 \pm 0,01$	$4,07 \pm 0,2$

Die diesen  $pK'$ -Werten entsprechenden Konstanten  $10^{pK'}$  haben folgende Bedeutung:

$$K'_{HZ} = [HZ]' / [H] \cdot [Z]'; \quad K'_{H_2Z} = [H_2Z] / [H] \cdot [HZ]', \quad (2)$$

<sup>8)</sup> G. Schwarzenbach, A. Willi & R. O. Bach, Helv. 30, 1303 (1947).

wobei:

$$[Z]' = [Z] + [MZ] = [Z] (1 + [M] \cdot K_{MZ}), \quad (3)$$

$$[HZ]' = [HZ] + [MHZ] = [HZ] (1 + [M] \cdot K_{MHZ}^M). \quad (4)$$

Die in den Klammerausdrücken rechts vorkommenden Konstanten sind die gesuchten Stabilitätskonstanten der Komplexe:

$$K_{MZ}^M \equiv [MZ]/[M] \cdot [Z]; \quad K_{MHZ}^M \equiv [MHZ]/[M] \cdot [HZ]. \quad (5)$$

Durch Kombination von (2), (3) und (4) bekommen wir:

$$K'_{HZ} = K_{HZ} \cdot (1 + [M] \cdot K_{MHZ}^M) / (1 + [M] \cdot K_{MZ}^M) \quad (6); \quad K'_{H_2Z} = K_{H_2Z} / (1 + [M] \cdot K_{MHZ}^M). \quad (7)$$

Aus dem Quotienten  $K_{H_2Z} / K'_{H_2Z}$  kann man also  $K_{MHZ}^M$  gewinnen (Gleichung 7) und diesen Wert in (6) einsetzen, so dass wir aus dem Verhältnis  $K_{HZ} / K'_{HZ}$  auch  $K_{MZ}^M$  bekommen. Für [M] ist dabei die als konstant betrachtete Erdalkalikonzentration der Tab. 2 einzusetzen.

Weil die Erdalkalikonzentration [M] im Verlauf der Neutralisation von sauer nach alkalisch aber nicht ganz konstant bleibt, sondern um etwa 10% absinkt, ist noch ein anderer Weg beschritten worden, um etwas genauere Konstanten zu bekommen. Man geht dabei direkt von den grundlegenden stöchiometrischen Gleichungen (8) aus:

$$\left. \begin{aligned} [M]_t \quad (&\sim 10^{-2}) = [M] + [MZ] + [MHZ] \\ [Z]_t \quad (&\sim 10^{-3}) = [Z] + [HZ] + [H_2Z] + [MZ] + [MHZ] \\ [H]_t \quad (&= [HCl] - [NaOH]) = [H] - [OH] + [HZ] + 2 [H_2Z] + [MHZ] \end{aligned} \right\} \quad (8)$$

[HCl] und [NaOH] bedeuten hierin die vorgelegte Salzsäure und die zur Rücktitration im jeweiligen Punkt der Neutralisationskurve verbrauchte Natronlauge, beide ausgedrückt in Molen pro Liter Titrationslösung. Die drei Gleichungen (8) kann man auswerten, wenn wir mit Hilfe der Basizitätskonstanten der Tab. 1 die Grössen [HZ] und [H<sub>2</sub>Z] eliminieren und ebenso die Grösse [MHZ] mit Hilfe der aus der Überschusskurve erhaltenen Bildungskonstanten  $K_{MHZ}^H$ . Nach dieser Elimination verbleiben noch drei Unbekannte, nämlich die Konzentrationen [Z], [M] und [MZ], die man natürlich nun mit Hilfe der drei Gleichungen (8) aus jedem Punkt der Titrationskurve ausrechnen kann. Das Ergebnis setzt sich dann zur Konstanten  $K_{MZ}^M$  (Gleichung 5) zusammen. Etwa 7 Punkte der Puffergebiete der Überschusskurven wurden derart ausgewertet, die erhaltenen Zahlen für  $K_{MZ}^M$  gemittelt und zusammen mit den grössten Abweichungen vom Mittelwert in die Tab. 3 eingetragen. Diese Resultate stimmen gut mit den nach der einfacheren ersten Methode aus den pK'-Werten der Tab. 2 erhaltenen Zahlen überein.

**Tabelle 3<sup>9)</sup>.**

Bildungskonstanten der Metallkomplexe für  $\mu = 0,1$  und bei 20°

Z	lg $K_{CaZ}^{Ca}$	lg $K_{CaHZ}^{Ca}$	lg $K_{CaHZ}^H$	lg $K_{MgZ}^{Mg}$	lg $K_{MgHZ}^{Mg}$	lg $K_{MgHZ}^H$
Adenosin	—	—	—	—	—	—
AMP	1,41 ± 0,03	—	—	1,69 ± 0,02	—	—
ADP	2,78 ± 0,03	—	—	3,11 ± 0,05	1,5 ± 0,2	4,7 ± 0,2
ATP	3,60 ± 0,03	1,8 ± 0,1	4,7 ± 0,1	4,00 ± 0,04	2,0 ± 0,1	4,5 ± 0,1
TP	4,95 ± 0,05	3,1 ± 0,2	6,0 ± 0,2	5,80 ± 0,05	3,7 ± 0,1	5,8 ± 0,1

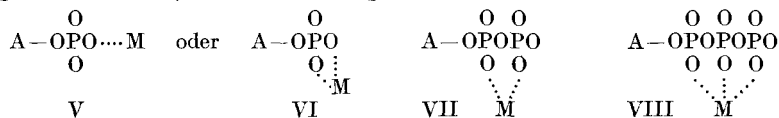
<sup>9)</sup> Von den Adenosinphosphaten ist bisher einzig die Komplexbildung der Adenyl-3'-phosphorsäure mit Strontium untersucht worden. *J. Schubert* (Am. Soc. **76**, 3442 (1954)) findet als Stabilitätskonstante mit Hilfe der Ionentauschermethode:  $K = 10^{14}$ , gültig für  $\mu = 0,16$ , 25° und einen pH-Wert zwischen 7,2 und 7,3. Da der pK-Wert von Adenyl-3'-phosphat (log  $K_{HZ}$ ) wesentlich unter 6 liegen dürfte, handelt es sich bei dem angegebenen Wert um  $K_{SrZ}$  unserer Bezeichnungsweise, was mit dem Calciumkomplex von AMP ausgezeichnet übereinstimmt.

Wie oben erwähnt, wurde die Rechtfertigung für die Vernachlässigung der bimetalischen Teilchen in Reaktion (1) und den Gleichungen (3) und (4) durch die Auswertung einer sog. Äquivalentkurve erbracht, entstanden durch Titration eines äquimolekularen Gemisches von Metall und Komplexbildner, beide von der Konzentration  $10^{-3}$ . Diesmal könnten sich nur dann bimetalische Komplexe bilden, wenn die zweite Stufe:  $M + MZ \rightarrow M_2Z$  eine grössere Gleichgewichtskonstante hätte als die erste:  $M + H \rightarrow MZ$ , was von vornherein äusserst unwahrscheinlich ist. Für diese Äquivalentkurven, die ebenfalls in der Fig. 4 eingezeichnet wurden, sind also die Gleichungen (8) ohne Zweifel vollständig, und sie hat man für die Auswertung der Äquivalentkurve herangezogen, ohne aber diesmal hierfür das Ergebnis aus der Überschusskurve in bezug auf die Stabilität von MHZ zu verwenden. Vielmehr wurde derjenige Wert für  $K_{MHZ}^H$ :

$$K_{MHZ}^H \equiv [MHZ]/[H] \cdot [MZ] \quad (9)$$

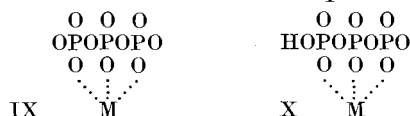
graphisch aufgesucht, welcher dann für  $K_{MZ}^M$  über den ganzen Bereich des Puffergebietes zwischen  $a = 1$  und 3 die beste Konstanz ergab. So erhielten wir die Zahlen der letzten Zeile der Tab. 3, die in bezug auf  $K_{MZ}^M$  mit dem Wert aus der Überschusskurve gut übereinstimmen. Berechnet man auch  $\lg K_{MHZ}^M$  aus der Überschusskurve, so erhält man um 0,1 bis 0,3 Einheiten kleinere Werte als aus der Äquivalentkurve. Das kommt davon her, dass der scheinbare pK-Wert  $\lg K_{H_2Z}^M$  der Tab. 2 bei TP mit einem grossen Fehler behaftet ist, weil sich die beiden Stufen hier stark überlappen. Beim Calcium ist der Fehler besonders gross, weil wegen des auftretenden Niederschlages nur etwa die Hälfte des Puffergebietes der Überschusskurve ausgewertet werden kann.

Die Stabilitätskonstanten der Tab. 3 zeigen, dass das Erdalkalimetall ohne Zweifel nur vom Phosphatrest der Adenosinphosphate festgehalten wird. Die Stabilität der Komplexe steigt schrittweise an von AMP zum ADP und ATP. Die Affinität gegenüber dem Proton steigt hingegen viel weniger stark an. Das ist ganz offensichtlich deshalb so, weil das Metall auch von den mittelständigen Phosphatresten chelatartig festgehalten wird, wie es die folgenden Formelbilder verdeutlichen:



Das Proton in den Metallhydrogenkomplexen der Adenosinphosphate haftet sicherlich an der Aminogruppe des Adenosinrestes. Es ist bemerkenswert, dass die Acidität dieses Protons geringer ist als diejenige des Ammoniumprotons in den Partikeln  $H_2Z$ . Das auf der endständigen Phosphatgruppe sitzende Proton in  $H_2Z$  übt also einen stärkeren acidifizierenden Einfluss aus als das Erdalkaliumion in MHZ. Das stimmt mit unseren bisherigen Erfahrungen bei anderen Komplexbildnern überein<sup>10</sup>).

Das Triphosphat ist wahrscheinlich ebenfalls „dreizahnig“ (terdentate), gemäss Formel IX für den Komplex MZ:



<sup>10</sup>) G. Schwarzenbach & W. Schneider, Helv. **38**, 1931 (1955).



Im Hydrogenkomplex des TP kann das Proton nur auf einer endständigen Phosphatgruppe sitzen, denn es hat einen pK-Wert von etwa 6. Der Hydrogenkomplex hat also die Struktur X und kann daher mit dem Adenosintriphosphatkomplex VIII verglichen werden. In der Tat stimmen die Stabilitätskonstanten von MZ bei ATP und MHZ bei TP etwa miteinander überein.

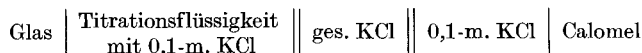
### Experimenteller Teil.

Reinstes, frisch umkristallisiertes Adenosin erhielten wir vom Physiologisch-chemischen Laboratorium der Universität Zürich. Das verwendete Adenosintriphosphat stammte von der Firma „Sigma“, Chem. Comp., St. Louis, Mo., USA., und Adenosindiphosphat sowie Adenosinmonophosphat von der Firma „Papst“ Laboratories, Milwaukee, Mich., USA. Die drei Adenosinphosphate wurden ohne weitere Reinigung direkt verwendet. AMP und ATP waren 99–100% rein. Das ADP der Firma *Papst Lab.* enthält nach den Erfahrungen des *Physiologisch-chemischen Laboratorium's* einige Prozente AMP und ATP.

Für die Herstellung von reinem Triphosphat gingen wir vom technischen Produkt „Polyphos“ aus, welches von der *Chemischen Fabrik Uetikon* in den Handel gebracht wird. Dieses wurde mehrmals aus Wasser-Alkohol umkristallisiert. Die so erhaltenen Kristalle wurden über Calciumchlorid getrocknet; sie entsprachen dann genau der Formel  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ .

Die Titrationskurven wurden mit Lösungsmengen von 100 ml aufgenommen, wobei die Temperatur durch einen Umlaufthermostaten auf  $20^\circ \pm 0,5^\circ$  konstant gehalten worden ist. Die  $\text{CO}_2$ -freie Titrationsflüssigkeit NaOH war etwa 0,2-m. und wurde aus einem Dosimeter der Firma *Ingold* zugegeben, welches die benötigten Mengen von höchstens insgesamt 1 ml mit einer Genauigkeit von  $2 \cdot 10^{-4}$  ml abzulesen gestattete. Es erwies sich als nötig, das Dosimeter ebenfalls zu thermostatisieren; sowohl der Metallblock mit dem Stempel als auch der Glasteil des Gerätes wurden deshalb mit einem Wassermantel für den Durchfluss des Thermostatenwassers ausgerüstet.

Die benutzte galvanische Messkette entsprach folgendem Schema:



Als Indikator diente eine *Beckman* Glaselektrode No. 1190–80, und die 0,1-n.-Calomelektrode war in einem *Dewar*-Gefäss eingebaut, durch welches ebenfalls Thermostatenwasser getrieben werden konnte. Derart konnte die Vergleichselektrode während der ganzen Messzeit von mehreren Wochen, auch während der Nacht, bei konstanter Temperatur gehalten werden. Die Phasengrenzen zur gesättigten KCl-Lösung wurden vor jeder Titration frisch hergestellt, um absolut konstant bleibende Flüssigkeitspotentiale zu erhalten. Das System wurde häufig durch die Aufnahme von Neutralisationskurven von Essigsäure geeicht, und die Eichwerte zeigten keine grösseren Abweichungen als  $\pm 0,01$  pH-Einheiten.

Als Potentiometer diente ein *Beckman* pH-Meter, Modell B.

### SUMMARY.

Stability constants of calcium and magnesium complexes with adenosin-monophosphate, adenosin-diphosphate, adenosin-triphosphate and inorganic triphosphate (often called tripolyphosphate) have been determined. The possible structure of these complexes is discussed. Adenosin itself is unable to bind alkaline earth cations.

Chemisches Institut der Universität Zürich und  
Laboratorium für anorganische Chemie der ETH.